

試験報告書

依頼者 株式会社フューチャーケミカル

検体 本報告書中

表題 抗ウイルスコーティング剤のA型インフルエンザウイルス
及びネコカリシウイルス不活化活性の評価

当社が拝受致しました上記検体の試験結果をご報告いたします。

試験機関：株式会社プロテクト
試験機関責任者：田中伸幸



I-1. 依頼者

株式会社フューチャーケミカル

I-2. 試験機関及び住所

試験機関：株式会社プロテクトィア

試験場所：大阪府茨木市美穂ヶ丘 8-1 インキュベーション棟 I213

試験責任者：田中伸幸（株式会社プロテクトィア）1

I-3. 試験実施日

A型インフルエンザウイルス不活化試験 2020年7月29日

ネコカリシウイルス不活化試験 2020年9月7日

I-4. 使用試験体

- ・加工検体 フューチャーAnv. コーティング済み アルミ板
- ・試験対照 ポリエチレン板(アズワン社)

I-5. 試験概要

上記検体の A 型インフルエンザウイルス及びネコカリシウイルスへの不活化効果を ISO21702 法を元とした試験によって評価する。

I-6. 試験対象菌株・細胞・ウイルス株

| | |
|----------------------------------|--------------|
| Influenza A virus H1N1 A/PR/8/34 | ATCC VR-1469 |
| 宿主細胞：MDCK 細胞(イヌ腎細胞) | ATCC CCL-34 |
| Feline Calicivirus F-9 | ATCC VR-782 |
| 宿主細胞：CRFK 細胞(ネコ腎臓細胞) | ATCC CCL-94 |

I-7. 試験方法

試験検体及び対照ポリエチレン板、それぞれ 50mm×50mm のものを準備した。シャーレ上に準備した各検体にウイルス液 $1-10 \times 10^7$ PFU/mL 0.4 mL を播種後、ウイルス液上にカバーフィルム (40mm×40mm、ポリエチレン) を設置した。試験対照においては接種直後、試験対照及び試験検体においては 25°C±1°C 下で 24 時間静置後、SCDLP 培地 10 mL を添加し、抽出を行った。さらに SCDLP 培地を用いて 10 倍ずつ段階希釈し、10 倍段階希釈系列を作成した。10 倍段階希釈系列を事前に播種した宿主細胞に 1 mL ずつ滴下し、37°C 5% CO₂ 下で 1 時間感染処理を行った。ウイルス感染後、細胞上清を 0.8% オキソイド寒天溶液に置換し、37°C 5% CO₂ 下で 1-2 日間培養した。プラークの形成を目視で確認した

後、5%グルタルアルデヒド溶液で固定し、メチレンブルー染色を行い、形成されたプラーク数の測定データを元にウイルス感染力価を測定した。

[計算式]

<試験成立条件>

$$(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{mean}}) \leq 0.2$$

L_{\max} 接種直後の試験対照のうち、最大Log(PFU/cm²)

L_{\min} 接種直後の試験対照のうち、最少Log(PFU/cm²)

L_{mean} 接種直後の試験対照の平均Log(PFU/cm²)

<抗ウイルス活性値>

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t$$

R 抗ウイルス活性値

U_0 接種直後の平均Log(PFU/cm²)

U_t 作用時間後の平均Log(PFU/cm²)

A_t 加工試験検体の作用時間後の平均Log(PFU/cm²)

I-8. 試験結果

試験結果を以下に示す。

[A型インフルエンザウイルス不活化活性]

[成立条件の確認]

| LMax | Lmin | Lmean |
|--------------------|------|--------|
| 4.59 | 4.21 | 4.40 |
| (LMax-Lmin)/Lmean= | | 0.0873 |
| 試験成立条件：成立(<0.2) | | |

[試験結果]

| | |
|------|----------------|
| 初期力価 | 4.5E+07 PFU/mL |
|------|----------------|

| | 作用時間 | PFU/ c m ² | | | Log(PFU/cm ²) | | 抗ウイルス活性 R |
|--------------------------------|------|-----------------------|---------|---------|---------------------------|------|--------------|
| | | N=1 | N=2 | 平均 | 記号 | 数値 | |
| 試験対照 | 0 | 237,500 | 206,250 | 221,875 | U_0 | 5.3 | - |
| 試験対照 | 24 | 16,125 | 39,063 | 27,594 | U_{t24} | 4.4 | - |
| フューチャーAnv. コーティング済み アルミ板 | 24 | 0.63 | 0.63 | 0.63 | A_{t1} | -0.2 | 4.6 |

[ネコカリシウイルス不活化活性]

[成立条件の確認]

| | | |
|---------------------------|-------------|--------------|
| LMax | Lmin | Lmean |
| 5.92 | 5.88 | 5.90 |
| (LMax-Lmin)/Lmean | | |
| 試験成立条件：成立(<0.2) | | |

[試験結果]

| | | |
|----|---------|--------|
| 力価 | 1.3E+07 | PFU/mL |
|----|---------|--------|

| | 作用時間 | PFU/cm2 | | | Log(PFU/cm2) | | 抗ウイルス活性 R |
|--------------------------------|------|---------|---------|---------|------------------|------|--------------|
| | | N=1 | N=2 | 平均 | 記号 | 数値 | |
| 試験対照(0h) | 0 | 762,500 | 831,250 | 796,875 | U ₀ | 5.9 | - |
| 試験対照(24h) | 24 | 89,063 | 117,500 | 103,281 | U _{t24} | 5.0 | - |
| フューチャーAnv. コーティング済み アルミ板 | 24 | 0.63 | 0.63 | 0.63 | At _t | -0.2 | 5.2 |

I-9. 考察及び結論

供与試験検体のウイルス不活化効果を評価した。A型インフルエンザに対しては抗ウイルス活性4.6以上、ネコカリシウイルスに対しては抗ウイルス活性5.2以上が確認された。

以上